УДК 594.124—105(262.5)

А. В. Чайковская, С. И. Давиденко

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ ЭКСТРАПАЛЛИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ МОРСКИХ И ПРЕСНОВОДНЫХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

Экстрапаллиальная полость двустворчатых моллюсков расположена между мантией и раковиной. Секрет железистого эпителия внешней поверхности мантии выделяется непосредственно в экстрапаллиальную полость и используется животным для формирования раковины. Помимо данной функции экстрапаллиальная жидкость, предполагается, активно участвует в процессах флокуляции минеральных (глинистых) суспензий и тем самым препятствует механическому засорению фильтрационного аппарата. Для выяснения физико-химических аспектов тех или иных функций необходимы прежде всего сведения о том, каков состав данной жидкости в момент выделения ее из клетки и как она меняется во времени. Данных о химической природе изучаемой жидкости в литературе очень мало. Вопрос об изменении химической природы экстрапаллиальной жидкости двустворчатых моллюсков в зависимости от свойств водной среды в литературе вообще не рассматривался.

Целью настоящего исследования явилось выяснение различий в химическом составе секрета экстрапаллиальной полости морских и пресноводных моллюсков. В качестве объекта исследования были использованы виды, различающиеся по образу жизни и среде обитания. Из пресноводных двустворчатых моллюсков были взяты представители родов *Unio Philipsson,* 1788 и *Anodonta* L. семейства Unionidae. Перловицевые предпочитают условия скоростного олиготипа и поселяются на участках рек и озер, где скорость течения приближается к 0,1 м/с. Иногда они встречаются в условиях скоростного мезотипа и даже политипа при скорости течения до 1,5 м/с (Стадниченко, 1984). Это узкостенобатные организмы, жители прибрежных зон водоемов. Представителем морских моллюсков была взята черноморская мидия (*Mytilus galloprovincialis L.*). Мидии являются неподвижной формой, ведущей прикрепленный образ жизни. Это один из наиболее эврибионтных видов пластинчатожаберных моллюсков.

Методика получения экстрапаллиальной жидкости описана ранее (Чайковская, Ускова, 1985). Содержание органических и неорганических веществ определяли путем сжигания сухих остатков, полученных при высушивании жидкости при температуре +50 °С. Белок определяли по Лоури (Lowry, 1951), углеводы по Бадину (Badin, 1953), нуклеиновые кислоты по Спирину (Спирин, 1971), гель-проникающую хроматографию проводили на колонках с сефадексом G-75 и С-200. Для подавления электролитного набухания элюирование проводили 0,1 Н раствором хлорида натрия. Состав белков определяли также методом диск-электрофореза в щелочном буфере по Девису (Мауэр, 1971). Белки окрашивали 0,1 %-ным раствором амидочерного 10 В.

Результаты исследования. Экстрапаллиальная жидкость пресноводных и морских моллюсков является многокомпонентной водной системой органических и неорганических веществ. Концентрация этих веществ различна (табл. 1).

Как видно из приведенных в таблице данных, сухое вещество экстрапаллиальной жидкости пресноводных моллюсков отличается пониженным содержанием электролитов по сравнению с морскими. Количество солей у них почти в два раза меньше, чем в экстрапаллиальной жидкости черноморской мидии. Однако содержание их выше, чем в речной воде (Коненко, 1952). Следовательно, можно полагать, что экстрапаллиальная жидкость изученных пресноводных организмов в равной степени, как и экстрапаллиальная жидкость черноморской мидии, проявляет сродство к электролитам. У пресноводных моллюсков содержание электролитов в экстрапаллиальной жидкости отличается незначительно, однако количество последних у перловицы меньше, чем в экстрапаллиальной жидкости беззубки. На первый взгляд, это противоречит данным по массе раковин, так как беззубки по сравнению с перло-

Таблица 1. Содержание органических и неорганических веществ в экстрапаллиальной жидкости моллюсков

Вид	Содержание воды	Сухой остаток мг/мл	Органическое вещество, %	Неорганическое вещество, %
Беззубка	99,734±0,03	2,66±0,15	58,3	41,7
Перловица	99,731±0,017	2,69±0,11	66,5	33,5
Черноморская мидия	97,535±0,015	24,65±0,45	27,3	72,7

Таблица 2. Содержание биополимеров в экстрапаллиальной жидкостти моллюсков

Исследуемое вещество		Беззубка	Перловица	Черноморская мидия
Белок	мг/мл	0,65±0,14	1,10±0,16	1,38±0,15
	%	76,4	75,5	75,2
Углеводы	мг/мл	0,161±0,01	0,326±0,03	0,426±0,05
	%	18,9	22,4	23,2
Нуклеиновые кислоты	мг/мл	0,023±0,002	0,03±0,005	0,03±0,005
	%	2,7	2,2	1,9
Углевод/белок		0,25	0,30	0,30
Нуклеиновы кислоты/белок		0,035	0,029	0,025
Флокуляционная эффективность		3700	2180	1627

вицами обладают более мягкими раковинами и предпочитают жить в более мягких водах. Полученные данные, по-видимому, могут служить подтверждением высказанного Алимовым (Алимов, 1981) предположения о существовании различий в механизмах кальцификации у этих животных. Повышенное содержание солей в экстрапаллиальной жидкости морских моллюсков указывает на то, что через мантию последних происходит значительное проникновение ионов из морской воды. Гипертонический уровень концентрации ионов, очевидно, необходим для поддержания осмотического давления внутри тела моллюска.

Органические вещества экстрапаллиальной жидкости моллюсков представлены в основном белками и углеводами, а нуклеиновые кислоты содержатся в небольшом количестве (табл. 2). Согласно исследованиям Монда, Бехольда (Mond, Bechhold, 1922) в экстрапаллиальной жидкости содержатся также липопротеиды.

Из приведенных данных видно, что основным компонентом экстрапаллиальной жидкости моллюсков является белок. Процентное содержание данного компонента в секрете железистого эпителия у всех исследованных видов практически одинаковое. Однако в весовом отношении наблюдается резкое различие. Причем весовая концентрация биополимеров связана обратной зависимостью с его флокулирующей эффективностью. Таким образом, способность моллюсков осветлять мутные среды связана, по-видимому, с различной реактивностью белковых групп экстрапаллиальной жидкости.

Весовое соотношение углевод/белок, нуклеиновые кислоты/белок в экстрапаллиальной жидкости у всех исследованных видов почти одинаковое. Следовательно, можно предположить, что на построение матрикса, которому в формировании раковины моллюсков принадлежит главная роль, биополимеры включаются в определенном соотношении, которое не зависит от среды обитания животных.

Сравнение электрофоретических спектров белковых компонентов экстрапаллиальной жидкости моллюсков показало их высокую гетеро-

Таблица 3. Распределение по зонам дискретных белковых полос экстрапаллиальной жидкости моллюсков (pH-8,3)

Белковые зоны	Электрофоретическая подвижность	Беззубка		Перловица		Мидия	
		Количество полос	Соотношение, %	Количество полос	Соотношение, %	Количество полос	Соотношение, %
Медленноподвижная	0,00—0,33	11	58	11	64	9	56
Среднеподвижная	0,34—0,66	3	16	3	18	5	31
Быстроподвижная	0,67—1,00	5	26	3	18	2	13

генность. Электрофореграммы не идентичны и отличаются как по количеству, так и по расположению дискретных полос. У беззубки обнаружено 19, у перловицы — 17, а у черноморской мидии — 16 белковых фракций. Сопоставляя относительную электрофоретическую подвижность фракций белков экстрапаллиальной жидкости пресноводных моллюсков, обнаружено 16 общих фракций, а для пресноводных и морских — только 12. Следовательно, различия в белковом составе экстрапаллиальной жидкости выражены более четко у моллюсков, обитающих в разных экологических условиях.

Таким образом, электрофоретическое исследование показало, что экстрапаллиальная жидкость моллюсков имеет сложный белковый состав. Основное количество белковых фракций (более 50 %) отличается низкой электрофоретической подвижностью, что свидетельствует о высокой молекулярной массе данных белков (табл. 3).

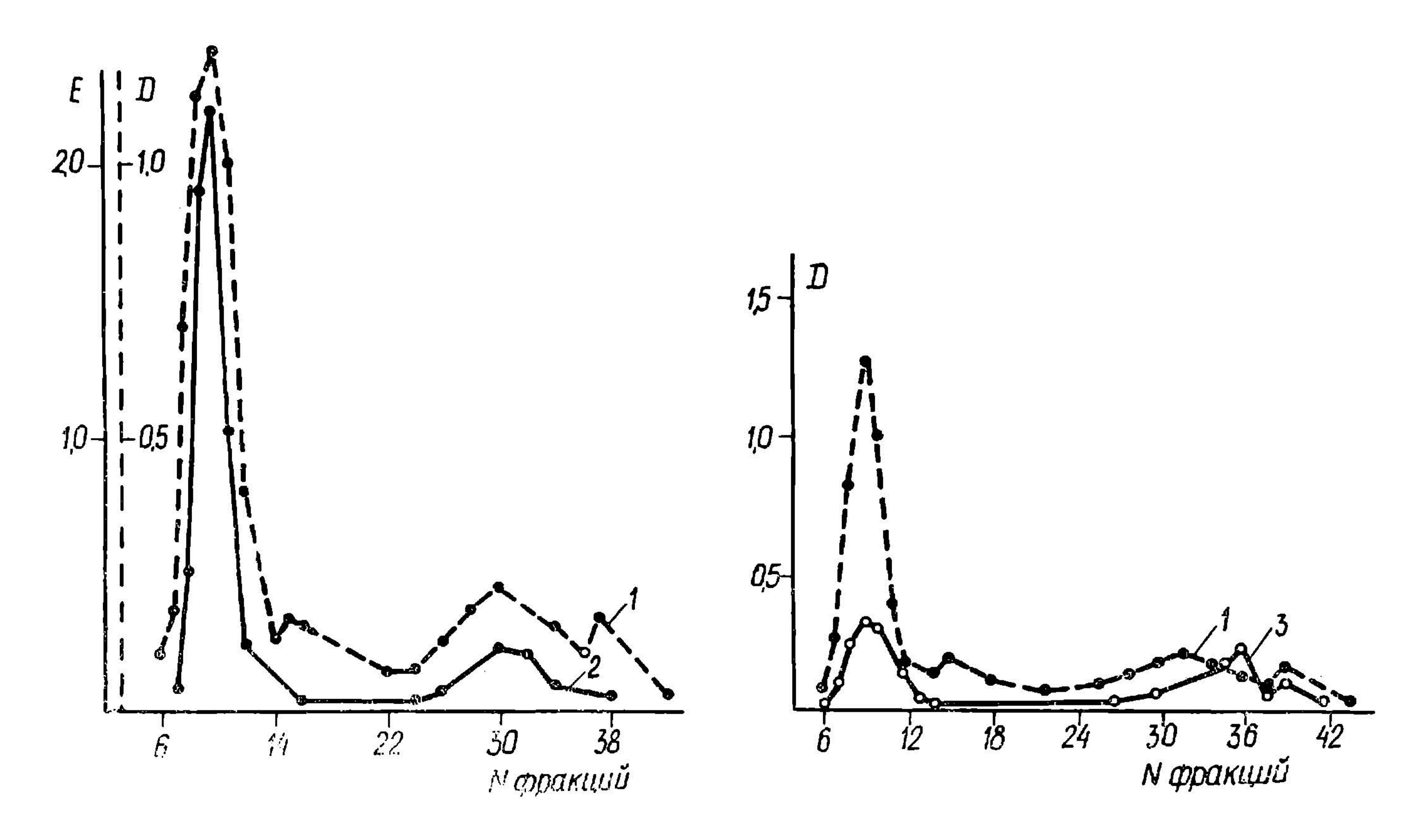
С целью представления о молекулярном распределении частиц экстрапаллиальной жидкости был применен метод гель-хроматографии на сефадексах С-75 и С-200. Сорбция биополимерных компонентов на сефадексе выражена очень слабо, и пробы элюируются практически полностью. Получены хроматограммы с четко разделенными пиками. Эффективная молекулярная масса первой фракции всех трех исследованных видов моллюсков колеблется в пределах 550000—570000. Молекулярная масса второй фракции беззубки 500000, перловицы — 43000, мидии — 40000, молекулярная масса третьей фракции беззубки — 43000, перловицы — 4000, у мидии последняя отсутствует.

Таким образом, характерной особенностью экстрапаллиальной жидкости всех исследованных видов является наличие веществ с молекулярной массой 600000 и 40000.

Таблица 4. Выход белков и углеводов в высокомолекулярной (ВМФ) и низкомолекулярной (НМФ) фракциях при гель-фильтрации экстрапаллиальной жидкости моллюсков (сефадекс С-75)

Экстрапаллиальная жидкость	Выход белков, %		Выход углеводов, %	
	ВМФ	НМФ	ВМФ	НМФ
Беззубка	65	35	60	40
Перловица	78	22	75	25
Черноморская мидия	70	30	62	38

Расчет выхода фракций на гель-хроматограммах показывает, что основная доля вещества выходит в высокомолекулярной фракции (60—80 %, табл. 4). Установлено, что для высокомолекулярной фракции характерно совмещение максимумов поглощения белков, углеводов и нуклеиновых кислот, что свидетельствует о гомогенности данной фракции и, следовательно, о возможном существовании связей между макромолекулами биополимеров. Иная картина наблюдается в случае низкомолекулярной фракции — пики кривых для белковых, углеводных и ну-



Гель-хроматограмма экстрапаллиальной жидкости перловицы на сефадексе С-75:
1 — белок; *2* — углеводы; *3* — нуклеиновые кислоты

клеиновых составляющих не всегда совмещаются (рисунок). На основании этого можно сделать заключение, что низкомолекулярная фракция гетерогенна и представляет собой смесь органических и неорганических веществ сравнительно невысокой молекулярной массы. Выделяется ли секрет железистого эпителия мантии в виде высокомолекулярных компонентов, а низкомолекулярная фракция появляется во времени в процессе распада комплексов на субъединицы, или наряду с синтезом высокомолекулярной фракции происходит и синтез низкомолекулярной фракции, на данном этапе сказать не представляется возможным.

Таким образом, на основании изучения химической природы экстрапаллиальной жидкости моллюсков в экологическом аспекте выявлены некоторые особенности ее биохимических субстратов, входящих в состав матрикса раковин, а также выполняющих ряд функций в процессе жизнедеятельности двустворчатых моллюсков.

Алимов А. Ф. Функциональная экология пресноводных моллюсков.— Л. : Наука, 1981.— 246 с.
Коненко А. Д. Гидрохимическая характеристика малых рек УССР.— Киев : Изд-во АН УССР, 1952.— 172 с.
Мауэр Г. Диск-электрофорез.— М.: Мир, 1971.— 247 с.
Спирин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот // Биохимия.— 1958.— **23**, вып. 5.— С. 658—662.
Стадниченко А. Н. Моллюски.— Киев : Наук. думка, 1984.— 379 с.— (Фауна Украины; Т. 29, **Вып. 9**).
Чайковская А. В., Ускова Е. Т. О химической природе экстрапаллиальной жидкости черноморской мидии // Гидробиол. журн.— 1985.— **21**, № 6.— С. 93—96.
Badin J. Improved method for determination of plasma polysaccarides with tryptophan // Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.— 1953.— **84**, N 2.— P. 288—289.
Mond J., Bechhold J. Handbuch der vergleichende Physiologie herausgegeben von wintersstein.— 1922.— **1**. H. 1/5.— P. 187.
Lowry H. Protein measurement with Folin reagent // J. Biol. Chem.— 1951.— **193**, N 1.— P. 265—275.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена
АН УССР (Киев)

Получено 23.01.86